薄层等电聚焦电泳技术应用于山蛭的分类研究

AN APPLICATION OF ISOELECTRIC FOCUSING ELECTROPHOREIS TO THE STUDY OF BIOCHEMICAL CLASSIFICATION OF *HAEMADIPSA*

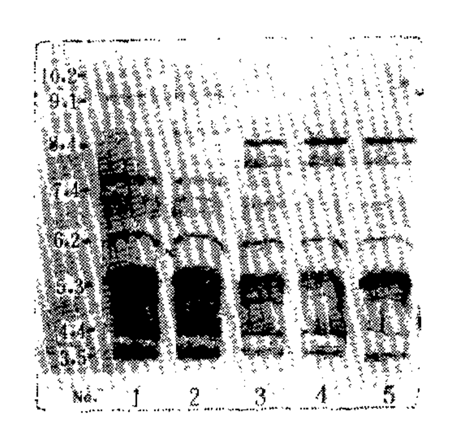
关键词：山蛭，蛋白，电泳，分类

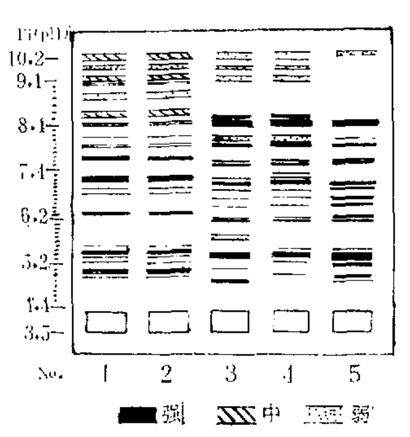
Key words: Haemadipsa, Protein, Electrophoresis, Classification

山蛭属于环节动物门蛭纲的一种嗜吸人畜血液的动物。广泛分布于东南亚的亚热带丛林及我国华东、华南、西南各省。在我国，迄今已发现15种山蛭。对于这些山蛭的形态、分类及生态等生物学方面的研究曾先后有过报道。其中仅盐源山蛭的生化成分被作过初步分析。至于采用较先进的电泳技术分析山蛭种间的蛋白质特征及差异，探讨其应用于山蛭属的种间分类尚未见报道。为此，我们选用了分辨率高且便于对多个样品同时进行比较分析的薄层等电聚焦电泳对四种山蛭（日本山蛭*Haemadipsa japonica*，盐源山蛭*H. yanyuanensis*，广川山蛭*H. guongchuanna* 及盐边山蛭*H. yanbianensis*）的5个样品的可溶性蛋白进行了测定分析。

山蛭：

1号：日本山蛭（采自云南西双版纳景洪县）；2号：日本山蛭（采自云南西双版纳勐海县）；3号：盐源





图A、B四种山蛭水溶性蛋白薄层等电聚焦电泳图谱

Fig A. B Diagran of isoelectric focusing electrophoresis of the soluble proteins in 4 speeies Haemadipsa

A. 实物照片　　B. 描绘图

No. 1.日本山蛭（景洪县）　2.日本山蛭（勐海县）
3.盐源山蛭（盐边县）　4.广川山蛭（盐边县）
5.盐边山蛭（盐边县）

（下转300页）

本文1987年11月27日收到，1988年1月11日修回。

* 四川盐边山蛭防制科研组

（上接284页）

山蛭（3、4、5号均采自四川盐边县）；4号：广川山蛭；5号：盐边山蛭。

电泳样品用以上各新鲜山蛭定量制成匀浆。过夜、离心后取上清液备用。聚丙烯酰胺凝胶T＝7%，C＝2.5%。凝胶中含两性电解质载体(pH4—10）为0.74%，电极液：负极1*M*氢氧化钠，正极1*M*磷酸。电泳按常规操作。4℃通电，开始电流40毫安，电压300伏。待电流下降至2毫安时，将电压升至1000伏，恒压电泳2小时。按Blakesley方法染色蛋白质。

实验结果：等电聚焦电泳分析结果如图A、B。四种山蛭的可溶性蛋白均能分离出21—25个组分。日本、盐源、广川及盐边四种山蛭的蛋白质电泳图谱均有差异（比较图中2，3，4，5号图谱）。其中日本山蛭与盐源、广川及盐边山蛭的电泳图谱有明显差异（图中1、2号与3、4、5号样品区带比较），盐源山蛭、广川山蛭及盐边山蛭的电泳图谱有小部分差异（比较图中3、4、5号样品）。云南景洪县和勐海县的同种山蛭（日本山蛭）的蛋白质电泳图谱没有差异（比较图中1、2号样品）。

实验结果表明薄层等电聚焦电泳能反映出同属不同种山蛭可溶性蛋白质的生化差异。由于蛋白质既是基因决定的，也是基因的产物，作为遗传特征是可靠的。因此，我们认为应用等电聚焦电泳分离山蛭可溶性蛋白质的方法对于山蛭的分类研究及其开发利用可能有重要参考价值。尤其可以为形态上不易区分的种间分类起重要的作用。王恩义探讨了电泳方法在分类学上的应用。他认为应用电泳等生化技术于分类学中，可以为形态分类增加比较客观的手段。Avise论述电泳分析在分类学中的价值时提出，种间的生化差异对描述和鉴定不同种有一定的参考意义。并可使同属物种比较容易地分辨出来，而超出了常规分类的标准。

本实验分析的四种山蛭蛋白的电聚焦图谱均有差异，而同种山蛭（不同地区的）电泳图谱没有差异。支持了形态学分类确定的它们分别为4个独立山蛭种的见解。

从实验结果还可观察到：云南的日本山蛭与四川盐边的三种山蛭的蛋白电泳谱差异大，而四川盐边的三种山蛭之间的电泳谱差异小。似乎显示出不同地区的不同种山蛭蛋白差异大，同一地区不同种山蛭的蛋白差异小。是否不同山蛭种间的生化差异大小受地区生活环境的影响，以及导致这种结果的原因如何均有待进一步研究。

罗雅 潘夕观* 王凤临 杨光敏 黄启华 谭琪
（四川省医科院寄生虫病研究所）